

УДК 582.711.31:547.56/.458.88:615.076.9



## ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПЕКТИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА ЛИСТЬЕВ КРЫЖОВНИКА ОТКЛОНЕННОГО (*GROSSULARIA RECLINATA* (L.) MILL.)

С.Л. Аджиахметова, Д.И. Поздняков, Н.М. Червонная, Л.П. Мыкоц,  
А.В. Воронков, Э.Т. Оганесян

Пятигорский медико-фармацевтический институт –  
филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
357532, Россия, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11  
E-mail: similla503@mail.ru

В листьях крыжовника отклоненного обнаружено 23 соединения, из которых по наличию стандартов идентифицировано только 13 веществ. Одним из показателей биодоступности препаратов является коэффициент распределения исследуемых веществ между гидрофильной и липофильной фазами, а также в различных биологических жидкостях. Пектиновые вещества обладают профилактическим действием: противовоспалительным, антибактериальным, противосклеротическим, антиаллергическим. **Цель работы:** выделение, идентификация фенольных соединений, исследование коэффициента распределения и антидислипидемической активности пектиновых веществ листьев крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.). **Материалы и методы.** Обезжиренное сырье (листья крыжовника отклоненного) трижды экстрагировали 40% спиртом этиловым при нагревании в течение 60 мин. Объединенные извлечения в делительной воронке последовательно обрабатывали хлороформом, диэтиловым эфиром, этилацетатом и н-бутанолом. Выделение пектиновых веществ из листьев крыжовника отклоненного проводили по методике Н.К. Кочеткова и М. Sinner. При определении коэффициента распределения из органических растворителей нами были использованы диэтиловый эфир и н-октанол, в которых изучаемые объекты хорошо растворимы. Процедуры введения растворов исследуемых пектиновых веществ и раствора холестерина были разделены 2-х часовым интервалом. По истечении 14 дней у животных производили забор венозной крови с последующим получением сыворотки и определением параметров, характеризующих состояние липидно-холестеринового профиля крови. **Результаты и обсуждение.** В результате исследования фенольных соединений листьев крыжовника отклоненного впервые были выделены гиперозид, рутин, кофейная кислота. Полученные данные свидетельствуют, что для водных растворов пектиновых веществ крыжовника лучшее распределение из водного слоя в органический происходит в н-октанол. При применении пектиновых веществ, полученных из листьев крыжовника, у крыс по сравнению с животными негативного контроля группы наблюдалась нормализация липидно-холестеринового профиля крови. **Заключение.** Методом препаративной колоночной хроматографии в извлечении из листьев крыжовника отклоненного были обнаружены кверцетин, гиперозид, рутин, кемпферол, астрагалин и кофейная кислота. Можно предположить, что пектиновые вещества из листьев крыжовника в щелочной среде кишечного содержимого будут лучше распределяться и всасываться. Применение исследуемых пектиновых веществ из листьев крыжовника способствовало коррекции дислипидемии.

**Ключевые слова:** листья крыжовника отклоненного, флавоноиды, фенолокислоты, полисахариды, коэффициент распределения, дислипидемия

### Для цитирования:

Аджиахметова С.Л., Поздняков Д.И., Червонная Н.М., Мыкоц Л.П., Воронков А.В., Оганесян Э.Т.  
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПЕКТИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА ЛИСТЬЕВ КРЫЖОВНИКА ОТКЛОНЕННОГО (*GROSSULARIA RECLINATA* (L.) MILL.).  
Фармация и фармакология. 2018;6(2):121-134.  
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-2-121-134  
© Аджиахметова С.Л., Поздняков Д.И., Червонная Н.М., Мыкоц Л.П., Воронков А.В., Оганесян Э.Т., 2018

### For citation:

Adjiahmetova S.L., Pozdnyakov D.I., Chervonnaya N.M., Myikots L.P., Voronkov A.V., Oganesyanyan E.T.  
PHENOLIC COMPOUNDS AND PECTIC SUBSTANCES OF EUROPEAN GOOSEBERRY LEAVES (*GROSSULARIA RECLINATA* (L.) MILL.).  
*Pharmacy & Pharmacology*. 2018;6(2):121-134. (In Russ.)  
DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-2-121-134

## PHENOLIC COMPOUNDS AND PECTIC SUBSTANCES OF EUROPEAN GOOSEBERRY LEAVES (*GROSSULARIA RECLINATA* (L.) MILL.)

*S.L. Adjiahmetova, D.I. Pozdnyakov, N.M. Chervonnaya, L.P. Myikots, A.V. Voronkov, E.T. Oganessian*

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of Volgograd Medical State University  
11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532  
E-mail: similla503@mail.ru*

*In the leaves of European gooseberry 23 compounds have been found, and only 13 of them have been identified by the presence of standards. One of the indicators of the bioavailability of drugs is the distribution coefficient of the substances under investigation between the hydrophilic and lipophilic phases, as well as in various biological fluids. Pectic substances have a preventive effect: anti-inflammatory, antibacterial, anti-sclerotic, anti-allergic. **The aim of the work is:** isolation, identification of phenolic compounds, investigation of the distribution coefficient and the antidi-lipidemic activity of the pectic substances in European gooseberry leaves (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.). **Materials and methods.** Degreased raw materials (leaves of European gooseberry) were extracted three times with 40% ethanol by heating for 60 minutes. In the separatory funnel the combined extracts were subsequently treated with chloroform, diethyl ether, ethyl acetate and n-butanol. Isolation of pectin substances from the leaves of European gooseberry was carried out according to N.K. Kochetkov and M. Sinner's method. When determining the distribution coefficient from organic solvents, diethyl ether and n-octanol, in which the objects under study are readily soluble, have been used. The procedures of the solutions input of the investigated pectic substances and cholesterol solution were separated by a 2-hour interval. After 14 days, venous blood was collected from the animals, followed by the production of serum and determination of the parameters characterizing the state of the lipid-cholesterol blood profile. **Results and discussion.** As a result of the study of phenolic compounds of European gooseberry leaves, hyperoside, rutin, caffeic acid have been separated for the first time. The data obtained show that for aqueous solutions of pectic substances of European gooseberry, the best distribution from the aqueous layer to the organic layer occurs in n-octanol. When using the pectic substances obtained from European gooseberry leaves, the normalization of the lipid-cholesterol profile in blood was observed in rats in comparison with the animals of the negative control group. **Conclusion.** By the method of preparative column chromatography, quercetin, hyperoside, rutin, kaempferol, astragaline, and caffeic acid were detected in European gooseberry leaves. It can be assumed that the pectic substances from gooseberry leaves will be better distributed and absorbed in the alkaline environment of intestinal contents. The use of the studied pectic substances from gooseberry leaves promoted the correction of dyslipidemia.*

**Keywords:** *European gooseberry leaves, flavonoids, phenolic acids, polysaccharides, distribution coefficient, dyslipidemia*

**ВВЕДЕНИЕ.** В листьях крыжовника отклоненного методом высокоэффективной жидкостной хроматографии обнаружено 23 соединения, из которых по наличию стандартов идентифицировано только 13 веществ. Они представлены флавоноидами, кумаринами и фенолкарбоновыми кислотами [1].

Для более подробной информации о полифенольном составе извлечения из листьев крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.), полученного экстракцией 40% спиртом этиловым, мы провели его фракционирование обработкой разными растворителями в сочетании с препаративной колонной хроматографией.

Одним из показателей биодоступности препаратов является коэффициент распределения исследуемых веществ между гидрофильной и липофильной фазами, а также в различных биологических жидкостях [2].

Пектиновые вещества (ПВ) обладают профилактическим действием: противовоспалительным, антибактериальным, противосклеротическим, антиаллер-

гентным. Обладают свойством коррекции липидного обмена [3–5].

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ:** выделение, идентификация фенольных соединений, исследование коэффициента распределения и антидислипидемической активности пектиновых веществ листьев крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.).

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

**Получение извлечения и выделение индивидуальных соединений**

В качестве исследуемого сырья использовали листья крыжовника отклоненного, собранные в июле-августе 2015–2017 гг. в фазу цветения и плодоношения растения, сорт «Московский красный», регион Кавказские Минеральные Воды (Ставропольский край).

Обезжиренное сырье (листья крыжовника отклоненного) трижды экстрагировали 40% спиртом этиловым при нагревании в течение 60 мин. Полученное извлечение стужали до объема 100 мл, после этого в

делительной воронке последовательно обрабатывали хлороформом, диэтиловым эфиром, этилацетатом и *n*-бутанолом.

Полученные фракции после удаления растворителей переносили в хроматографические колонки, заполненные силикагелем марки *Silicagel 60* или полиамидом марки *Polyamide Woelm*. Элюентом для полиамида служила вода очищенная, а для силикагеля – хлороформ. Процесс элюирования контролировали методами тонкослойной хроматографии (пластинки «*Silufol*», «*Sorbfil*») и бумажной хроматографии (БХ) (*MUNKTELL FN 7*). В качестве подвижной фазы использовали *n*-бутанол : кислота уксусная : вода (БУВ (4:1:5)); 15% кислота уксусная; этилацетат – кислота уксусная – вода (5:1:1).

#### **Выделение пектиновых веществ и определение коэффициента распределения.**

Выделение пектиновых веществ из листьев крыжовника отклоненного проводили по методике Н.К. Кочеткова и М. Sinner [6]. После гидролиза во фракции пектиновых веществ обнаружены глюкоза, ксилоза, рамноза и галактуроновая кислота. Гравиметрический анализ указывает на преобладание ПВ (6,4%). Поэтому дальнейшие исследования проводили с этой фракцией [7].

При определении коэффициента распределения из органических растворителей нами были использованы диэтиловый эфир и *n*-октанол, в которых изучаемые объекты хорошо растворимы. Экстракция ПВ проводилась как из водных растворов (0,1-1%), так и растворов, доведенных до рН=2 и рН=8 с помощью 10% растворов кислоты хлористоводородной и гидроксида натрия соответственно. Для экстракции объемы исследуемых растворов и электролита были взяты одинаково. Концентрация водных растворов начальная и в рафинате определялась кондуктометрическим методом с использованием калибровочного графика зависимости  $1/R = f(c)$  [2].

#### **Определение антидислипидемической активности**

##### **Животные**

Определение липидно-холестеринового профиля крови выполняли на 30 крысах – самцах линии *Wistar* массой 200–220 грамм, разделенных на 3 равные группы ( $n=10$ ). Содержание животных и проведение экспериментов соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 3 51000.396 и 51000.4-96), международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных (1997).

#### **Исследования влияния пектиновых веществ, выделенных из листьев крыжовника отклоненного, на коррекцию дислипидемии.**

Первая группа крыс – интактные животные (ИН). У оставшихся крыс моделировали гиперхолестеринемию путем курсового (14 дней) перорального введения 3% раствора холестерина (серия: 371274, Pangeas, Испания) в подсолнечном масле [8]. При этом вторую

группу крыс составили животные негативного контроля (НК), не получавшие фармакологическую поддержку. Третьей группе крыс *per os* вводили исследуемые пектиновые вещества, выделенные из листьев крыжовника отклоненного (ПК), в количестве 1 мл 1% раствора на 100 г веса животного.

Процедуры введения растворов исследуемых пектиновых веществ и раствора холестерина были разделены 2-часовым интервалом. По истечении 14 дней у животных производили забор крови из яремной вены с последующим получением сыворотки и определением параметров, характеризующих состояние липидно-холестеринового профиля крови: общего холестерина (хол. общ.), холестерина липопротеидов низкой плотности (хол. ЛПНП), холестерина липопротеидов высокой плотности (хол. ЛПВП) и триглицеридов (ТГ). В работе использовались стандартные наборы реактивов производства «Ольвекс Диагностикум» (общий холестерин: серия 01042017, холестерин ЛПВП: серия 080022017, холестерин ЛПНП: серия 20022017, триглицериды: серия 01122016, Швеция). Пробоподготовка и дальнейший ход анализа соответствовали инструкции, прилагаемой к каждому набору.

#### **Статистическая обработка**

Результаты эксперимента обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (*StatSoft*, США) Полученные данные подвергали тесту на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. В случае подчинения данных закону нормального распределения для сравнения средних применяли *t*-критерий Стьюдента, в противном случае дальнейшую статистическую обработку данных производили с помощью *U*-критерия Манна-Уитни.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

##### **Выделение индивидуальных веществ методом препаративной колоночной хроматографии.**

Хлороформную фракцию переносили в колонку с полиамидом и элюировали последовательно водой очищенной, спиртом этиловым разной концентрации и спиртом этиловым 95%. Получены два вещества, один из которых характеризуется голубым свечением (вещество 1), а второе имеет темно-бурую окраску зоны адсорбции в УФ-свете (вещество 2). Из эфирной фракции на колонке с силикагелем выделены два вещества – вещество 3 и вещество 4, имеющие в УФ-свете зону адсорбции темно-бурого цвета.

Этилацетатную фракцию сгущали до небольшого объема и смешивали с безводным хлороформом (1:5). Выделившийся осадок переносили на колонку с полиамидом, элюировали водно-этанольными смесями с градиентным увеличением спирта этилового и получили вещества 5 и 6. Хлороформно-этилацетатный фильтрат после отделения осадка сгущали и переносили в колонку с силикагелем. Элюированием хлороформно-этанольными смесями с градиентным увеличением спирта этилового получены две фракции: в одной содержатся два соединения полифенольной природы – вещества 7 и 8; во второй четыре

вещества – вещества **9**, **10**, **11** и **12**. Далее обе фракции подвергли повторному разделению на колонках с полиамидом. Элюирование осуществляли водно-этанольными смесями.

Хроматографический анализ и малый интервал температур плавления выделенных веществ свидетельствует о том, что они являются индивидуальными (табл. 1) [9 – 12].

Таблица 1 – Значения коэффициентов подвижности полученных веществ

15% кислота уксусная	Значение коэффициента подвижности		Номер полученного вещества
	БУВ (4:1:5)	этилацетат – кислота уксусная – вода (5:1:1)	
0,36±0,02	0,42±0,03	0,44±0,03	<b>2</b>
0,59±0,04	0,64±0,02	0,32±0,02	<b>3</b>
0,26±0,02	0,78±0,04	0,83±0,04	<b>5</b>
0,52±0,03	0,77±0,03	0,80±0,03	<b>7</b>
0,43±0,02	0,73±0,02	0,64±0,02	<b>8</b>
0,07±0,01	0,89±0,03	0,90±0,02	<b>10</b>

ИК-спектр вещества **3**, а также данные сравнительного хроматографического анализа, УФ-спектрофотометрии с ионизирующими и комплексообразующими добавками идентичны аналогичным параметрам для вещества **11**. Об этом свидетельствует также отсутствие депрессии температуры плавления в пробе смешения. Выявлена схожесть некоторых физико-химических параметров для веществ **2** и **4**.

Вещества **2**, **3**, **5**, **8**, **10**, приобретают красное окрашивание в условиях цианидиновой пробы, что свидетельствует об их принадлежности к производным флавонола. Анализ структур этих соединений осуществляли методом УФ-спектроскопии с ионизирующими и комплексообразующими добавками, поскольку она максимально информативна и достоверна [13].

УФ-спектры агликонов (вещества **5** и **10**) характеризуются наличием двух полос примерно одинаковой интенсивности. Полученные данные свидетельствуют о том, что у соединений **2**, **3**, **5**, **8** и **10** в положении C<sub>5</sub> присутствует свободная гидроксигруппа, на что указывает значительный батохромный сдвиг обеих полос поглощения в присутствии алюминия хлорида. Вещества **5**, **10** в присутствии алюминия хлорида дают значительный батохромный сдвиг обеих полос, что свидетельствует о наличии гидроксигрупп C<sub>5</sub> и/или C<sub>3</sub>.

При добавлении свежеплавленного натрия ацетата к анализируемым растворам выделенных веществ наблюдается батохромный сдвиг коротковолновой II полосы, это свидетельствует о наличии свободной гидроксигруппы при C<sub>7</sub> у всех соединений. Батохромный сдвиг длинноволновой полосы в спектрах веществ **2**, **3** и **5** вызывает добавление свежеплавленного ацетата натрия и борной кислоты, что характерно для флавоноидов, имеющих орто-дигидроксигруппировку в положениях 3' и 4' бокового фенильного радикала.

Батохромный сдвиг I-й полосы без снижения ее интенсивности наблюдается под влиянием метилата натрия, что указывает на наличие гидроксигрупп у атомов C<sub>3</sub> и C<sub>4</sub> (снижение интенсивности и деградация через 3-5 минут); у веществ **8** и **10** также наблюдается батохромный сдвиг I-й полосы без изменения ее интенсивности, что свидетельствует о свободной гидроксигруппе у C<sub>4</sub> в этих соединениях [10].

Для уточнения положения углеводного остатка использовали УФ-спектроскопию агликона в присутствии хлорида алюминия. При сравнении спектров поглощения веществ до и после гидролиза обращает на себя внимание появление батохромного сдвига в случае агликона, что дает основание утверждать, что в соединениях **2**, **3**, **8** имеет место гликозидирование по положению C<sub>3</sub>.

ИК-спектры измеряли на приборе «ИК-фурье спектрометр ФСМ 1201». Карбонильная группа незамещенного флавонола поглощает при 1650 см<sup>-1</sup>. Если флавонол содержит группу OH- в положении C<sub>3</sub>, то частота понижается до 1619 см<sup>-1</sup>. Введение гидроксильной группы в положении C<sub>5</sub> флавоноидов несколько увеличивает частоту поглощения карбонильной группы до 1655 см<sup>-1</sup>, несмотря на возможность образования внутримолекулярной водородной связи [9, 14, 15].

В результате щелочного расщепления исследуемых агликонов (**2**, **3**, **5**) с калия гидроксидом были получены протокатеховая кислота и флороглюцин, а в результате щелочного расщепления агликонов **8**, **10** с калия гидроксидом были получены пара-гидроксibenзойная кислота и флороглюцин, что доказано БХ (подвижная фаза – БУВ (4:1:5), проявитель – 1% водный раствор хлорида железа (III), 0,1% диазотированная сульфаниловая кислота) [6, 15].

В результате полного кислотного гидролиза вещества **2** были получены агликон – кверцетин и D-галактоза. Гидролизат обрабатывали диэтиловым эфиром в делительной воронке. Методом БХ с использованием стандартного образца – кверцетина в подвижных фазах БУВ (4:1:5) и 15% уксусной кислоты хроматографировали полученное извлечение. Гидролизат нейтрализовали карбонатом бария по универсальному индикатору, фильтровали, упаривали до небольшого остатка и хроматографировали в подвижной фазе БУВ (4:1:5) с использованием стандартных образцов. После проявления анилинфталатным реактивом обнаружили D-галактозу [6, 16].

В ЯМР-<sup>1</sup>H-спектре (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ, м.д., J/Гц) вещества **10** проявляются сигналы протонов: 6,19 (1H, d, J = 1,96 Hz, H-6), 6,37 (1H, d, J = 1,96 Hz, H-8), 8,04 (2H, m, H-2', 6'), 6,82 (2H, m, H-3', 5'), 12,94 (1H, s, OH-5).

Спектр ЯМР-<sup>13</sup>C вещества **10** (101 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): 154,21 (C-2); 135,98 (C-3); 180,52 (C-4); 104,77 (C-5); 156,51 (C-6); 99,30 (C-7); 164,66 (C-8); 93,99 (C-9); 162,31 (C-10); 121,55 (C-1'); 130,15 (C-2',6'); 115,58 (C-3',5'); 157,73 (C-4').

Таким образом, данные ЯМР-<sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-спектроскопии подтверждают наши выводы, полученные на основании УФ-спектрофотометрии с ионизирующими и комплексобразующими добавками.

УФ-спектр вещества **7** характеризуется тремя полосами поглощения с максимумами при 216, 243, 325 нм. По данным УФ-, ИК-спектроскопии и бумажной хроматографии, можно сделать вывод, что вещество **7** – это кофейная кислота [13].

Полученные результаты свидетельствуют, что вещество **5** – это 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонол (кверцетин), вещество **2** – кверцетин-3-О-β-D-галакто-

зид (гиперозид), соединение **3** – кверцетин-3-рутинозид (рутин), соединение **10** представляет собой 3,5,7,4'-тетраоксифлавонол (кемпферол), вещество **8** – кемпферол-3-О-β-D-глюкопиранозид (астрагалин), а вещество **7** – кофейная кислота.

#### Определение коэффициента распределения

Коэффициент распределения в системе *n*-октанол – вода очищенная широко используется в химии, медицине, фармакологии для описания транспорта веществ через биологические мембраны [2].

Показано, что зависимость между коэффициентом распределения и биологическим действием может носить параболический характер, при этом по достижении оптимума липофильности дальнейшее ее повышение может приводить к снижению биологической активности [17]. Результаты определения коэффициента распределения представлены в таблицах 2, 3.

**Таблица 2 – Коэффициент распределения в системах вода очищенная – *n*-октанол, вода очищенная – диэтиловый эфир**

C, %	1/R × 10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (исходное)	1/R × 10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup>	C <sub>1</sub> , %	C <sub>2</sub> , %
экстракция диэтиловым эфиром				
0,1	0,42	0,37	0,07	0,03
0,2	0,75	0,71	0,18	0,02
0,4	1,39	1,05	0,29	0,11
экстракция <i>n</i> -октанолом				
0,6	1,95	1,89	0,59	0,01
0,8	2,58	2,47	0,78	0,02
1,0	3,17	2,87	0,90	0,10

Примечание: C – исходная концентрация; R – сопротивление водных растворов ПВ; C<sub>1</sub> и C<sub>2</sub> – равновесные концентрации растворов ПВ после экстракции

**Таблица 3 – Влияние pH среды на коэффициент распределения в системе вода очищенная – *n*-октанол**

C, %	1/R × 10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (исходное)	1/R <sub>HCl</sub> × 10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (исходное)	1/R <sub>HCl</sub> × 10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> ( <i>n</i> -октанол)	1/R <sub>NaOH</sub> × 10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (исходное)	1/R <sub>NaOH</sub> × 10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> ( <i>n</i> -октанол)	C <sub>1(HCl)</sub> , % (pH = 2)	C <sub>1(NaOH)</sub> , % (pH = 8)
0,6	0,98	6,86	6,57	3,43	3,10	0,57	0,59
0,8	1,78	6,85	6,41	2,59	2,48	0,75	0,76
1,0	2,18	6,72	4,06	3,18	2,45	0,60	0,77

Коэффициент распределения рассчитывали через равновесные концентрации ПВ в воде очищенной (C<sub>1</sub>) и *n*-октанол (C<sub>2</sub>). Концентрация октанольного раствора возводилась в степень соответствующей степени ассоциации. Последняя определялась графическим способом по зависимости lgC<sub>1</sub> и lgC<sub>2</sub>.

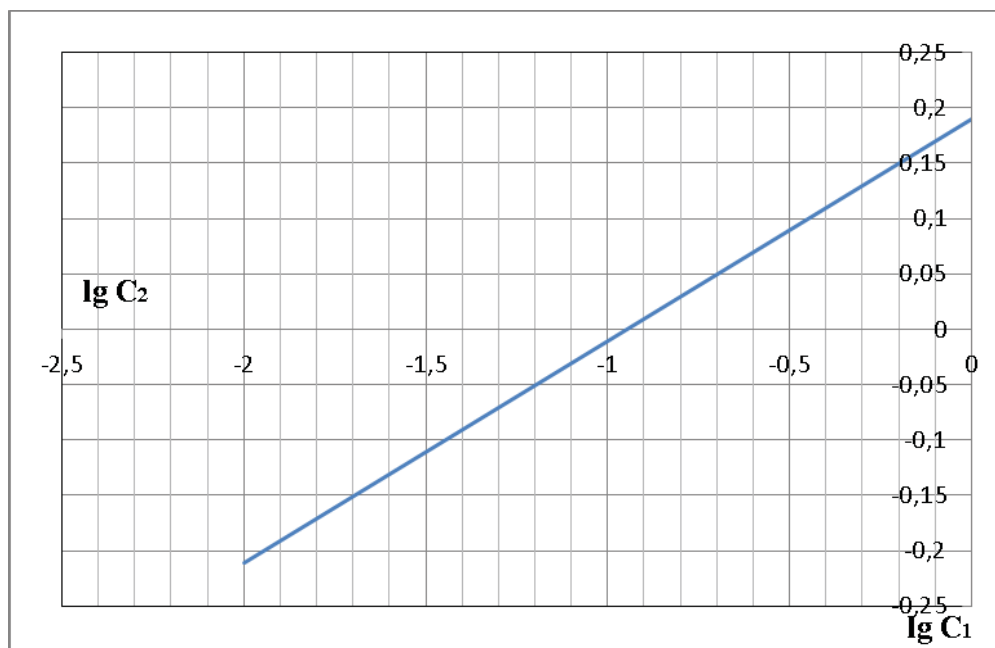
На рисунке 1 показана линейность такой зависи-

мости, позволяющая графически определить величину коэффициента распределения и степень ассоциации.

Полученные данные свидетельствуют, что для водных растворов ПВ крыжовника лучшее распределение из водного слоя в органический происходит в *n*-октанол. Экспериментальные данные о влиянии на распределение pH среды показали, что для ПВ крыжовника лучшее распределение происходит в щелочной среде (табл. 4).

**Таблица 4 – Значения коэффициента распределения в различных средах**

№	Коэффициент распределения	Среда
1	1,59	вода очищенная – <i>n</i> -октанол
2	2,60	вода очищенная – диэтиловый эфир
3	1,84	вода очищенная (pH=2) – <i>n</i> -октанол
4	1,43	вода очищенная (pH=8) – <i>n</i> -октанол

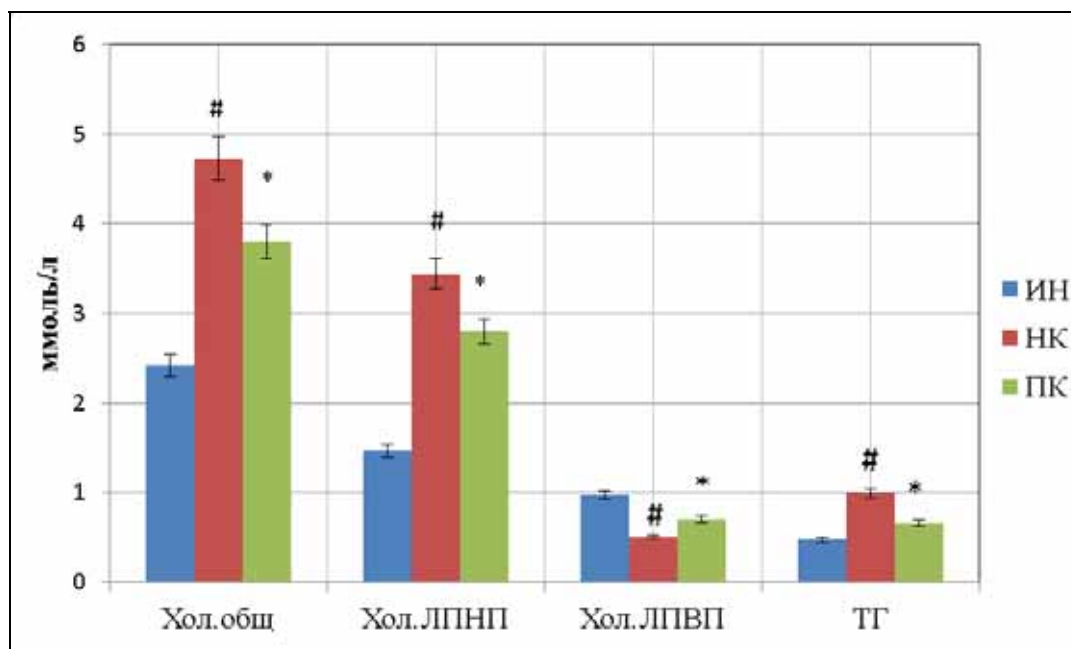


**Рисунок 1 – Графический расчет параметров распределения ПВ крыжовника отклоненного**  
Примечание:  $C_1$  и  $C_2$  – равновесные концентрации растворов ПВ после экстракции

Показано, что процесс перехода ПВ в органическую фазу (*n*-октанол) носит экзотермический характер ( $\Delta H < 0$ ). В изменении изобарно-изотермического потенциала вклад энтальпийной составляющей больше, чем энтропийного фактора и поэтому  $\Delta G < 0$ . Это свидетельствует о самопроизвольности процесса распределения полисахаридов в органический слой.

**Влияние пектиновых веществ, выделенных из листьев крыжовника отклоненного, на липидно-холестериновый профиль крови.**

У группы интактных крыс содержание общего холестерина, холестерина ЛПНП, холестерина ЛПВП и ТГ составляло  $2,42 \pm 0,08$  ммоль/л;  $1,47 \pm 0,098$  ммоль/л;  $0,97 \pm 0,026$  и  $0,47 \pm 0,03$  ммоль/л соответственно (рис. 2).



**Рисунок 2 – Влияние ПВ на липидно-холестериновый профиль крови**

Примечание: хол. общ. – общий холестерин, хол. ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности, хол. ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, ТГ – триглицериды, ИН – интактные животные, НК – негативный контроль, ПК – пектиновые вещества, выделенные из листьев крыжовника отклоненного;

# – статистически значимо ( $p < 0,05$ , *t*-критерий Стьюдента) относительно ИН группы животных; \* – статистически значимо ( $p < 0,05$ , *t*-критерий Стьюдента) относительно НК группы животных

В условиях экспериментальной гиперхолестеринемии у животных группы негативного контроля по сравнению с интактными крысами отмечено повышение концентрации общего холестерина, холестерина ЛПНП и ТГ на 95,5% ( $p < 0,05$ ), 134% ( $p < 0,05$ ) и 110,6% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Содержание холестерина ЛПВП у НК группы животных, напротив уменьшилось, по отношению к ИН крысам на 86,5% ( $p < 0,05$ ), что согласуется с литературными данными [18, 19].

Под действием пектиновых веществ, полученных из листьев крыжовника, у крыс, по сравнению с животными НК группы, наблюдалась нормализация липидно-холестеринового профиля крови (рис. 2), выражаемая в снижении концентрации общего холестерина, холестерина ЛПНП и ТГ на 27,1% ( $p < 0,05$ ); 26% ( $p < 0,05$ ) и 54,7% ( $p < 0,05$ ) соответственно, а также повышении содержания холестерина ЛПВП на 32,7% ( $p < 0,05$ ).

Полученные в ходе исследования данные согласуются с данными литературы и подтверждают благоприятное влияние пектиновых веществ на липидно-холестериновый обмен [18]. Снижение уровня общего холестерина, триглицеридов, нормализация отношения хол. ЛПНП / хол. ЛПВП на фоне введения изучаемых пектиновых веществ возможно связано с угнетением процесса всасывания избытка холестери-

на и триглицеридов, что, в свою очередь, предотвращает их проатерогенные эффекты [20, 21].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Методом препаративной колоночной хроматографии в извлечении из листьев крыжовника отклоненного *Grossularia reclinata* (L.) Mill., полученного спиртом этиловым 40%, были обнаружены кверцетин, гиперозид, рутин, кемпферол, астрагалин и кофейная кислота. Гиперозид, рутин, кофейная кислота впервые выделены из листьев крыжовника отклоненного.

Определение величин коэффициентов распределения пектиновых веществ в различных системах и их зависимость от кислотности среды позволит прогнозировать возможность проникновения их через биологические мембраны. Следовательно, можно предположить, что ПВ из листьев крыжовника в щелочной среде кишечного содержимого будут лучше распределяться и всасываться. В условиях экспериментальной гиперхолестеринемии у крыс отмечается увеличение концентрации общего холестерина, холестерина ЛПНП и ТГ на 95,5% ( $p < 0,05$ ), 134% ( $p < 0,05$ ) и 110,6% ( $p < 0,05$ ) соответственно, а также снижение содержания холестерина ЛПВП на 86,5% ( $p < 0,05$ ).

Применение исследуемых пектиновых веществ листьев крыжовника отклоненного способствовало коррекции дислипидемии, выражаемой в нормализации концентрации общего холестерина, холестерина ЛПНП, холестерина ЛПВП и ТГ.

**INTRODUCTION.** By methods of high-performance liquid chromatography 23 compounds have been found in European gooseberry leaves, and only 13 of them have been identified by the presence of standards. They are represented by flavonoids, coumarins and phenol carboxylic acids [1].

For more detailed information on the polyphenol extract from *European gooseberry leaves* (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.), obtained by extraction with 40% ethyl alcohol, we performed its fractionation by treatment with various solvents in combination with preparative column chromatography.

One of the indicators of bioavailability of drugs is the distribution coefficient of the substances under study between the hydrophilic and lipophilic phases, as well as in various biological fluids [2].

Pectic substances (PS) have a preventive effect: anti-inflammatory, antibacterial, anti-sclerotic, anti-allergic. They have the property of lipid metabolism correction [3–5].

**THE AIM OF THE WORK** is: isolation, identification of phenolic compounds, investigation of the distribution coefficient and the antidiabetic activity of the pectic substances in European gooseberry leaves (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.).

#### **MATERIALS AND METHODS**

##### **Extraction and isolation of individual compounds**

European gooseberry leaves collected in July–August 2015–2017 in the phase of flowering and fruiting, the “Moscow red” variety (the region of the Caucasian Mineral Waters (Stavropol Territory)) were used as the test material.

Degreased raw materials (European gooseberry leaves) were extracted three times with 40% ethanol by heating for 60 minutes. The resulting recovery was concentrated to a volume of 100 ml, then successively treated with chloroform, diethyl ether, ethyl acetate and n-butanol in a separatory funnel.

After removal of the solvents, the obtained fractions were transferred to chromatographic columns filled with silica gel of the Silicagel 60 brand or polyamide of the Polyamide Woelm brand. The eluent for the polyamide was purified water, and for silica gel it was chloroform. The elution process was monitored by thin layer chromatography (“Silufol”, “Sorbfil” plates) and paper chromatography (PC) (MUNKTELL FN 7). As the mobile phase n-butanol: acetic acid: water (BAW (4: 1: 5)); 15% acetic acid; ethyl acetate-acetic acid-water (5: 1: 1) were used.

##### **Isolation of pectic substances and determination of the distribution coefficient**

Isolation of pectic substances from European gooseberry leaves was carried out according to N.K. Kochetkov and M. Sinner’s methods [6]. After hydrolysis, glucose, xylose, rhamnose and galacturonic acid were found out in the fraction of pectic substances. Gravimetric analysis indicated PS predominance (6.4%). Therefore, further studies were carried out with this fraction [7].

When determining the distribution coefficient from organic solvents, diethyl ether and n-octanol were used, as the objects under study are readily soluble in them. PS extraction was carried out from both - aqueous solutions (0.1-1%) and the solutions brought to pH = 2 and pH =

8 with 10% solutions of hydrochloric acid and sodium hydroxide, respectively.

For extraction, the volumes of the solutions studied and the electrolyte were taken equally. The concentration of the aqueous solutions in the initial form and in the raffinate was determined by the conductometric method using the calibration curve of dependence  $1/R = f(c)$  [2].

**Determination of antidiabetic activity**

**Animals**

Determination of the lipid-cholesterol profile of blood was performed on 30 male Wistar rats weighing 200-220 grams, divided into 3 equal groups (n = 10). The animal care and the experiments were in accordance with the rules of laboratory practice (GLP) for pre-clinical studies in the Russian Federation (GOST 3 51000.396 and 51000.4-96), international recommendations of the European Convention for the Protection of Vertebrates (1997).

**Investigations of the effect of pectic substances isolated from European gooseberry leaves, on the correction of dyslipidemia**

The first group of rats were intact animals (IA). In the remaining rats, hypercholesterolemia was simulated by a course (14 days) oral administration of a 3% cholesterol solution (series: 371274, Panreac, Spain) in sunflower oil [8].

Hereby, the second group of rats were negative control animals (NC), not receiving pharmacological support. The third group of rats were injected per os with the investigated pectin substances isolated from European gooseberry leaves in the quantity of 1 ml of a 1% solution per 100 g of the animal's weight.

The procedures of the solutions input of the investigated pectic substances and cholesterol solution were separated by a 2-hour interval. After 14 days, the animals were withdrawn blood from the jugular vein, followed by the production of serum and the determination of parameters characterizing the state of the lipid-cholesterol blood profile: total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDLP cholesterol), high density lipoprotein cholesterol (HDLP cholesterol), and triglycerides (TG). The standard sets of reagents produced by Olvex Diagnosticum (total cholesterol: series 01042017, HDLP cholesterol: series 080022017, LDLP cholesterol: series

20022017, triglycerides: series 01122016, Sweden) were used in the work. Sample preparation and further analysis followed the instructions attached to each kit.

**Statistical processing**

The results of the experiment were processed by variational statistics methods using STATISTICA 6.0 application software package (StatSoft, USA). The obtained data were subjected to a normal distribution test using Shapiro-Wilk test. In the case of subordination of data to the law of normal distribution, Student t-test was used to compare the averages, otherwise further statistical processing of the data was carried out using Mann-Whitney U test.

**RESULTS AND DISCUSSION**

Isolation of individual substances by preparative column chromatography.

The chloroform fraction was transferred to a column of polyamide and eluted successively with purified water, ethyl alcohol of different concentrations and 95% ethyl alcohol. Two substances were obtained, one of which was characterized by a blue glow (Substance 1), and the other had a dark brown color in UV light in the adsorption zone (Substance 2). From the ether fraction on the column with silica gel two substances - Substance 3 and Substance 4 having a dark-brown color in UV light in the adsorption zone were separated.

The ethyl acetate fraction was concentrated to a small volume and mixed with anhydrous chloroform (1:5). The precipitate was transferred onto the column of polyamide, eluted with water-ethanol mixtures with a gradient increase in ethyl alcohol, and Substances 5 and 6 were obtained. The chloroform-ethyl acetate filtrate was concentrated after separation of the precipitate and transferred to a silica gel column. Elution with chloroform-ethanol mixtures with a gradient increase in ethyl alcohol yielded two fractions: one contained two polyphenolic compounds – Substances 7 and 8; the second contained four substances – 9, 10, 11 and 12. Then the both fractions were re-divided on polyamide columns. The elution was carried out with water-ethanol mixtures.

Chromatographic analysis and a small range of melting temperatures of the isolated substances indicate that they are individual (Table 1) [9 ± 12].

**Table 1 – Values of mobility coefficients of the obtained substances**

15% acetic acid	Value of the mobility coefficient		Number of the obtained substance
	BAW (4:1:5)	Ethyl acetate – acetic acid – water (5:1:1)	
0.36±0.02	0.42±0.03	0.44±0.03	<b>2</b>
0.59±0.04	0.64±0.02	0.32±0.02	<b>3</b>
0.26±0.02	0.78±0.04	0.83±0.04	<b>5</b>
0.52±0.03	0.77±0.03	0.80±0.03	<b>7</b>
0.43±0.02	0.73±0.02	0.64±0.02	<b>8</b>
0.07±0.01	0.89±0.03	0.90±0.02	<b>10</b>

The IR spectrum of Substance 3, as well as the data of comparative chromatographic analysis, UV spectrophotometry with ionizing and complexing additives, are identical to those for Substance 11. This is also indicated

by the absence of depression of the melting temperature in the sample of mixing. The similarity of some physical and chemical parameters for Substances 2 and 4 was revealed.

Substances 2, 3, 5, 8, 10 acquire red staining under



the conditions of cyanidin test, which indicates their belonging to the derivatives of flavonol. The structural analysis of these compounds was carried out by UV spectroscopy with ionizing and complexing additives, since it is maximally informative and reliable [13].

The UV spectra of aglycons (Substances 5 and 10) are characterized by the presence of two bands of approximately the same intensity. The obtained data indicate that in position C5 Compounds 2, 3, 5, 8 and 10 have a free hydroxy group, and that is indicated by a significant bathochromic shift of both absorption bands in the presence of aluminum chloride. In the presence of aluminum chloride Substances 5, 10 give a significant bathochromic shift of both bands, which indicates the presence of hydroxy groups C5 and / or C3.

When adding freshly melted sodium acetate to the analyzed solutions of the separated substances, a bathochromic shift of the short-wave II band is observed; this indicates the presence of a free hydroxy group for all compounds at C7. The bathochromic shift of the long-wave band in the spectra of Substances 2, 3 and 5 causes the addition of freshly melted sodium acetate and boric acid, which is characteristic of flavonoids having ortho-dihydroxy grouping at the 3' and 4' positions of the side phenyl radical.

The bathochromic shift of the I-st band without decreasing its intensity was observed under the influence of sodium methoxide, which indicated the presence of hydroxy groups of atoms C3 and C4 (decrease in intensity and degradation in 3-5 minutes); in Substances 8 and 10 a bathochromic shift of the I-st band was also observed without changing its intensity, which indicated a free hydroxy group in C4' in these compounds [10].

To clarify the position of the carbohydrate residue, UV spectroscopy of the aglycon in the presence of aluminum chloride was used. When comparing the absorption spectra of the substances before and after hydrolysis, the appearance of a bathochromic shift in the case of the aglycone attracts attention, which suggests that in Compounds 2, 3, 8 glycosidation takes place in the position of C3.

IR spectra were measured on the "IR-Fourier spectrometer FCM 1201". The carbonyl group of the unsubstituted flavone was absorbed at 1650 cm<sup>-1</sup>. If a flavone contains the group OH- in position C3, then the frequency is reduced to 1619 cm<sup>-1</sup>. The introduction of a hydroxyl group in the position C5 of flavonoids slightly increases the absorption frequency of the carbonyl group to 1655 cm<sup>-1</sup>, despite the possibility of formation of an intramolecular hydrogen bond [9, 14, 15].

As a result of alkaline cleavage of the investigated aglycones (2, 3, 5) with potassium hydroxide, protocatechic acid and floroglucin were obtained, and as a result of alkaline cleavage of aglycons 8, 10 with potassium hydroxide, para- hydroxybenzoic acid and floroglucin were obtained, which was proved by paper chromatography PC (the mobile phase was – BAW (4: 1: 5), the developer was a 1% aqueous solution of ferric chloride, a 0.1% diazotized sulfonil acid) [6, 15].

As a result of complete acid hydrolysis of Substance 2, aglucone - quercetin and D-galactose were obtained. The hydrolyzate was treated with diethyl ether in a separatory funnel. The obtained extract was chromatographed by a biochemical method using the standard quercetin sample in the mobile phases of PC BAW (4: 1: 5) and 15% acetic acid. The hydrolyzate was neutralized with barium carbonate using a universal indicator, then filtered, evaporated to a small residue and chromatographed in the mobile phase of PC BAW (4: 1: 5) using standard samples. After the development of aniliphthalate reagent, D-galactose was detected [6, 16].

The proton signals appear in NMR-1H spectrum (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm, J / Hz) of Substance 10: 6.19 (1H, d, 1.96 Hz, H-6), 6, 37 (1H, d, J = 1.96 Hz, H-8), 8.04 (2H, m, H-2', 6'), 6.82 (2H, m, H-3', 5'), 12.94 (1H, s, OH-5).

NMR-13C spectrum of Substance 10 (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 154.21 (C-2); 135.98 (P-3); 180.52 (P-4); 104.77 (P-5); 156.51 (P-6); 99.30 (C-7); 164.66 (P-8); 93.99 (P-9); 162.31 (P-10); 121.55 (C-1'); 130.15 (C-2 & apos;, 6 & apos;); 115.58 (C-3 & apos;, 5'); 157.73 (C-4').

Thus, NMR-1H and 13C spectroscopic data confirm our conclusions obtained on the basis of UV spectrophotometry with ionizing and complexing additives.

The UV spectrum of Substance 7 is characterized by three absorption bands with maxima at 216, 243, 325 nm. According to UV, IR spectroscopy and paper chromatography, it can be concluded that substance 7 is a coffee acid [13].

The results obtained indicate that Substance 5 is 3,5,7,3',4'-pentaoxyflavone (quercetin), Substance 2 is quercetin-3-O-β-D-galactoside (hyperoside), Compound 3 is quercetin-3 (rutin), Compound 10 is 3,5,7,4'-tetrahydroflavone (kaempferol), Substance 8 is kappeprole-3-O-β-D-glucopyranoside (astragaline) and Substance 7 is coffee acid.

#### **Determination of the distribution coefficient**

The distribution coefficient in the n-octanol-purified water system is widely used in chemistry, medicine, and pharmacology to describe the transport of substances through biological membranes [2].

It has been shown that the relationship between the distribution coefficient and the biological effect can be parabolic in nature, and when the lipophilicity optimum is reached, its further increase may lead to a decrease in biological activity [17]. The results of determining the distribution coefficient are presented in Tables 2, 3.

The distribution coefficient was calculated through the equilibrium concentrations of PS in purified water (C<sub>1</sub>) and n-octanol (C<sub>2</sub>). The concentration of the octanol solution was raised to the degree of the corresponding degree of association. The latter was determined graphically from the dependence of lgC<sub>1</sub> and lgC<sub>2</sub>.

Figure 1 shows the linearity of such a dependence, which allows us to graphically determine the value of the distribution coefficient and the degree of association.

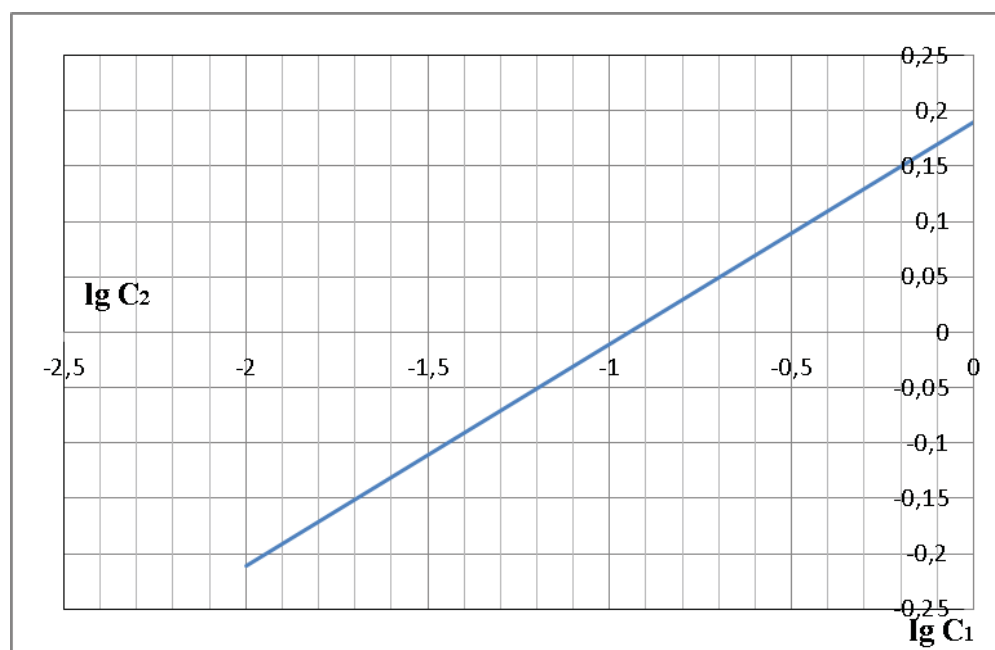
**Table 2 – Distribution Coefficient in systems water – n-octanol, purified water-diethyl ether**

C, %	1/R×10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (initial)	1/R×10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup>	C <sub>1</sub> , %	C <sub>2</sub> , %
Extraction with diethyl ether				
0.1	0.42	0.37	0.07	0.03
0.2	0.75	0.71	0.18	0.02
0.4	1.39	1.05	0.29	0.11
N-octanol extraction				
0.6	1.95	1.89	0.59	0.01
0.8	2.58	2.47	0.78	0.02
1.0	3.17	2.87	0.90	0.10

Note: C is the initial concentration; R is the resistance of aqueous solutions of PS; C<sub>1</sub> and C<sub>2</sub> are the equilibrium concentrations of solutions of PS after extraction

**Table 3 – Effect of pH-medium on the distribution coefficient in the system purified water - n-octanol**

C, %	1/R×10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (initial)	1/R <sub>HCl</sub> ×10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (initial)	1/R <sub>HCl</sub> ×10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (n-octanol)	1/R <sub>NaOH</sub> ×10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (initial)	1/R <sub>NaOH</sub> ×10 <sup>3</sup> , Ом <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup> (n-octanol)	C <sub>1(HCl)</sub> , % (pH = 2)	C <sub>1(NaOH)</sub> , % (pH = 8)
0.6	0.98	6.86	6.57	3.43	3.10	0.57	0.59
0.8	1.78	6.85	6.41	2.59	2.48	0.75	0.76
1.0	2.18	6.72	4.06	3.18	2.45	0.60	0.77



**Figure 1 – Graphical calculation of distribution parameters of European gooseberry**

Note: C<sub>1</sub> and C<sub>2</sub> are equilibrium concentrations of PC solutions after extraction

The data obtained indicate that for aqueous solutions of PS from European gooseberry, a better distribution from the aqueous layer to the organic layer occurs in

n-octanol. Experimental data on the effect on the pH distribution of the medium showed that the best distribution for gooseberry goose is in the alkaline medium (Table 4).

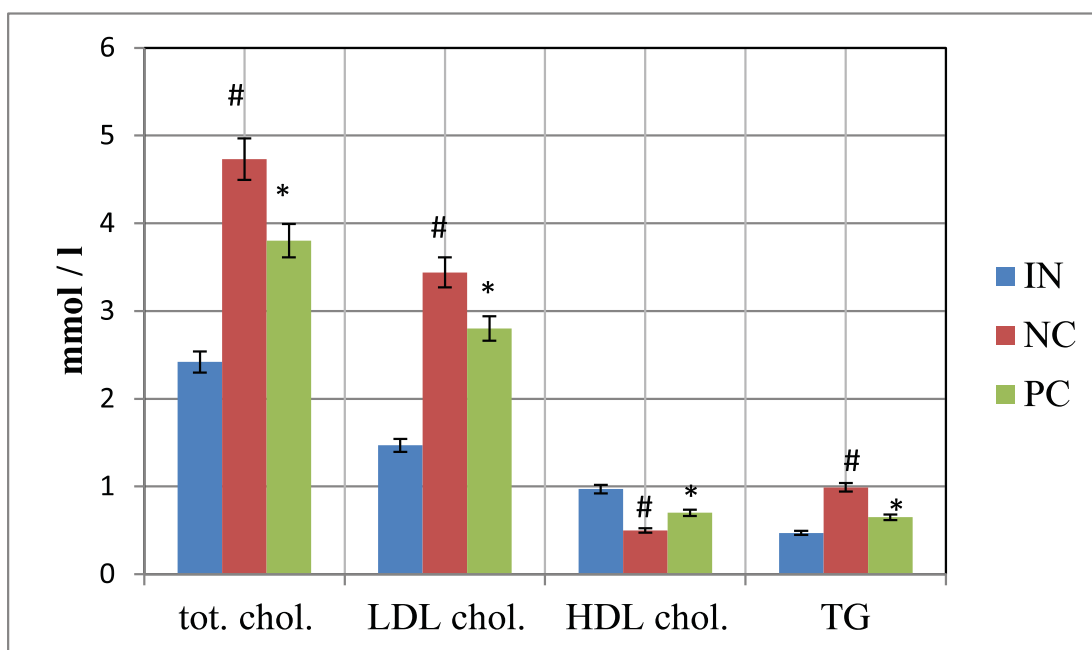
**Table 4 – Values of the distribution coefficient in various media**

№	Distribution coefficient	Medium
1	1.59	purified water – n-octanol
2	2.60	purified water – diethyl ether
3	1.84	purified water (pH = 2) – n-octanol
4	1.43	purified water (pH = 8) – n-octanol

It has been shown that the process of PC transition into the organic phase (n-octanol) is exothermic ( $\Delta H < 0$ ). In the variation of the isobaric-isothermal potential, the contribution of the enthalpy component is greater than the entropy factor and therefore  $\Delta G < 0$ . This indicates the spontaneous distribution of polysaccharides to the organic layer.

**The effect of pectic substances isolated from European gooseberry leaves of, on the lipid-cholesterol profile of blood**

In the group of intact rats the content of total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and TG was  $2.42 \pm 0.08$  mmol / l;  $1.47 \pm 0.098$  mmol / l;  $0.97 \pm 0.026$  and  $0.47 \pm 0.03$  mmol / L, respectively (Figure 2).

**Figure 2 – Effect of PC on lipid-cholesterol blood profile**

Note: tot. chol. – total cholesterol, LDL chol. – cholesterol of low density lipoproteins, HDL chol. – cholesterol lipoprotein of high density, TG-triglycerides, IN – intact animals, NC – negative control, PC – pectic substances isolated from European gooseberry, leaves;

# – statistically significant ( $p < 0.05$ , *t*-Student criterion) relative to the group of animals; \* – statistically significant ( $p < 0.05$ , *t*-Student criterion) relative to the group of NC animals

In conditions of experimental hypercholesterolemia in the animals of the negative control group as compared with the intact rats there was an increase in the concentration of total cholesterol, LDL-C and TG by 95.5% ( $p < 0.05$ ) and 134% ( $p < 0.05$ ) and 110.6% ( $p < 0.05$ ), respectively. In the NC group of animals the content of HDL cholesterol, on the contrary, decreased by 86.5% ( $p < 0.05$ ) with respect to IN rats, which agrees with the literature data [18, 19].

Under the action of pectic substances obtained from European gooseberry leaves, the normalization of the lipid-cholesterol profile of blood was observed in rats, compared with that in the animals of the NC group (Figure 2), expressed in the concentration decrease of total cholesterol, LDL cholesterol and TG by 27.1% ( $p < 0.05$ ); 26% ( $p < 0.05$ ) and 54.7% ( $p < 0.05$ ), respec-

tively, and an increase in HDL cholesterol by 32.7% ( $p < 0.05$ ).

The data obtained in the course of the study are consistent with the literature data and confirm the beneficial effect of pectic substances on lipid-cholesterol metabolism [18]. Decrease in the level of total cholesterol, triglycerides, normalization of the ratio LDL cholesterol / HDL cholesterol with the input of the studied pectic substances is possible due to the inhibition of the absorption of excess cholesterol and triglycerides, which, in its turn, prevents their pro-atherogenic effects [20, 21].

**CONCLUSION.** Preparative column chromatography was used to extract quercetin, hyperoside, rutin, kaempferol, astragaline and caffeic acid from European gooseberry leaves *Grossularia reclinata* (L.) Mill., obtained by 40% Ethanol. Hyperoside, rutin, coffee

acid have been first isolated from European gooseberry leaves.

The determination of distribution coefficients values of pectic substances in various systems and their dependence on the acidity of the medium will make it possible to predict the possibility of their penetration through biological membranes. Consequently, it can be assumed that PC from European gooseberry leaves will be better distributed and absorbed in alkaline environment of intestinal contents.

Under the conditions of experimental hypercholesterolemia, rats have an increase in the concentration of total cholesterol, LDL cholesterol and TG by 95.5% ( $p < 0.05$ ), 134% ( $p < 0.05$ ) and 110.6% ( $p < 0.05$ ) respectively, as well as a decrease in HDL cholesterol by 86.5% ( $p < 0.05$ ).

The application of the studied pectic substances of European gooseberry leaves contributed to the correction of dyslipidemia, expressed in the normalization of the concentration of total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and TG.

#### Библиографический список

1. Пеливанова С.Л., Селина И.И., Андреева О.А., Оганесян Э.Т. Полифенольный состав листьев крыжовника отклоненного и шелковицы черной // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. Науч. журн. 2012. №22 (141). Вып. 20/1. С. 170–173.
2. Альберт А. Избирательная токсичность. М.: Москва, 1989. Т. 1–2. 832 с.
3. Оводов Ю.С. Современные представления о пектиновых веществах // Биоорганическая химия. 2009. Т. 5. № 3. С. 293–310.
4. Крыжановский С.П., Богданович Л.Н., Беседнова Н.Н., Иванушко Л.А., Головачева В.Д. Гиполипидемические и противовоспалительные эффекты полисахаридов морских бурых водорослей у пациентов с дислипидемией // Фундаментальные исследования. 2014. №10. С. 93–100.
5. Бубенчикова В.Н., Левченко В.Н., Наседкин Д.С. Изучение полисахаридов травы хондриллы ситниковидной // Традиционная медицина. 2015. № 2 (41). С. 34–36.
6. Кочетков Н.К. Химия биологически активных соединений. М., 1970. 486 с.
7. Пеливанова С.Л., Андреева О.А., Лигай Л.В., Мычко Л.П., Оганесян Э.Т. Полисахариды крыжовника отклоненного (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. Пятигорск, 2013. Вып. 68. С. 76–77.
8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей ред. Р.У. Хабриева. 2 изд., перераб. и доп. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. 832 с.
9. Кочетова М.С., Семеновская Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А. Определение биологически активных соединений фенольной и полифенольной природы в различных объектах методами хроматографии // Успехи химии. 2007. Т. 76. №1. С. 88–100.
10. Иванова С.З., Федорова Т.Е., Иванова Н.В., Федоров С.В., Остроухова Л.А., Малков Ю.А., Бабкин В.А. Флавоноидные соединения коры лиственницы сибирской и лиственницы гмелина // Химия растительного сырья. 2002. №4. С. 5–13.
11. Куличенко Е.О., Андреева О.А., Лукашук С.П., Мазурина М.В. Исследование химического состава и антимикробной активности перидермы клубней картофеля // Фармация и фармакология. 2015. №3. 4(11). С. 4–7. DOI: 10.19163/2307-9266-2015-3-4(11)-4-7
12. Бомбела Т.В., Петриченко В.М., Кроткова О.А. Фенольные соединения некоторых видов рода Очанка (*Euphrasia* L.) флоры Пермского края // Химия растительного сырья. 2011. № 4. С. 177–180.
13. Бандюкова В.А., Шинкаренко А.Л., Казаков А.Л. Методы исследования природных флавоноидов. Пятигорск: Изд-во Бальнеол. ин-т, 1977. 72 с.
14. Корюлькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск: Гео, 2007. 232 с.
15. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения. М.: Наука, 2002. Т. 3. 216 с.
16. Червоная Н.М., Оганесян Э.Т., Андреева О.А., Сенченко С.П., Боровский Б.В. Способ получения стандарта патулетина из соцветий бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.) // Здоровье и образование в XXI веке. 2017. Т. 19. №6. С. 132–137.
17. Колбин А.М., Соломинова Т.С., Тюрина Л.А., Крылова С.Ф. Расчет и верификация коэффициентов распределения октанол/вода гербицидов // Башкирский химический журнал. 2007. Т. 14. №3. С. 170–173.
18. Ku C.S., Kim B., Pham T.X., Yang Y., Weller C.L., Carr T.P., Park Y.K., Lee J.Y. Hypolipidemic Effect of a Blue-Green Alga (*Nostoc commune*) Is Attributed to Its Nonlipid Fraction by Decreasing Intestinal Cholesterol Absorption in C57BL/6J Mice // Journal of Medicinal Food. 2015. 18(11). P. 1214 – 1222. DOI: 10.1089/jmf.2014.0121
19. Jiang T., Gao X., Wu C., Tian F., Lei Q., Bi J., Xie B., Wang H.Y., Chen S., Wang X. Apple-Derived Pectin Modulates Gut Microbiota, Improves Gut Barrier Function, and Attenuates Metabolic Endotoxemia in Rats with Diet-Induced Obesity Mice // Nutrients. 2016. 8(3). P. 126. DOI: 10.3390/nu8030126
20. Jesch E.D., Carr T.P. Food Ingredients That Inhibit Cholesterol Absorption // Preventive Nutrition and Food Science. 2017. 22(2). P. 67-80. DOI: 10.3746/pnf.2017.22.2.67
21. Jakobsdottir G., Xu J., Molin G., Ahrne S., Numan M. High-Fat Diet Reduces the Formation of Butyrate, but Increases Succinate, Inflammation, Liver Fat and Cholesterol in Rats, while Dietary Fibre Counteracts These Effects // PLoS ONE. 2013. No. 8(11): e80476. DOI: 10.1371/journal.pone.008047

---

---

**References**

1. Pelivanova SL, Selina II, Andreeva OA, Oganessian ET. Polifenol'nyj sostav list'ev kryzhovnika otklonennogo i shelkovicy chernoj [Polyphenolic composition of leaves of gooseberries of rejected and mulberry black]. Scientific statements of the Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy. 2012;22(141-20/1):170-3. Russian.
2. Al'bert A. Izbiratel'naya toksichnost' [Selective toxicity]. Mockva: Mockva, 1989;(1-2):832. Russian.
3. Ovodov YuS. Sovremennye predstavleniya o pektinovyh veschestvah [Modern ideas about pectin substances]. Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2009;5(3):293-310. Russian.
4. Kryzhanovskij SP, Bogdanovich LN, Besednova NN, Ivanushko LA, Golovacheva VD. Gipolipidemicheskie i protivovospalitel'nye efekty polisaharidov morskih buryh vodoroslej u pacientov s dislipidemiej [Lipid-lowering and anti-inflammatory effects of brown algae polysaccharides in patients with dyslipidemia]. Fundamental research. 2014;10:93-100. Russian.
5. Bubenchikova VN, Levchenko VN, Nasedkin DS. Izuchenie polisaharidov travy hondrilly sitnikovidnoj [Study of polysaccharides of grass chondrilla sithnikovidnoj]. Tradition medicine. 2015;2(41):34-6. Russian.
6. Kochetkov NK. Himiya biologicheskii aktivnyh soedinenij [Chemistry of biologically active compounds]. Mockva;1970. 486 p. Russian.
7. Pelivanova SL, Andreeva OA, Ligaj LV, Mykoc LP, Oganessian ET. Polisaharidy kryzhovnika otklonennogo (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.) [Polysaccharides of gooseberries rejected (*Grossularia reclinata* (L.) Mill.)]. Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmacevticheskoj produkcii: sb. nauch. tr., Pyatigorsk. 2013;68:76-7. Russian.
8. Rukovodstvo po ehksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novyh farmakologicheskiih veshchestv [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Habriev RU, editor. 2ed edition. Mockva: OAO "Izdatelstvo "Medicina";2005. 832 p. Russian.
9. Kochetova MS, Semenistaya EN, Larionov OG, Revina AA. Opredelenie biologicheskii aktivnyh soedinenij fenol'noj i polifenol'noj prirody v razlichnyh ob'ektah metodami hromatografii [Determination of biologically active compounds of phenolic and polyphenolic nature in various objects by chromatography methods]. Russian Chemical Reviews. 2007;76(1):88-100. Russian.
10. Ivanova SZ, Fedorova TE, Ivanova NV, Fedorov SV, Ostrouhova LA, Malkov YuA, Babkin VA. Flavonoidnye soedineniya kory listvennicy sibirskoj i listvennicy gmelina [Flavonoid compounds of Siberian larch bark and gmelin larch]. Chemistry of plant raw materials. 2002;4:5-13. Russian.
11. Kulichenko EO, Andreeva OA, Lukashuk SP, Mazurina MV. Issledovanie himicheskogo sostava i antimikrobnou aktivnosti peridermy klubnei kartofelya [Study of chemical composition and antimicrobial activity of periderm of potato tubers]. Pharmacy & Pharmacology. 2015;3(4):4-7. DOI: 10.19163/2307-9266-2015-3-4(11)-4-7. Russian.
12. Bombela TB, Petrichenko VM, Krotkova OA. Fenol'nye soedineniya nekotoryh vidov roda Ochanka (*Euphrasia* L.) flory Permskogo kraja [Phenolic compounds of some species of the Ochanka family (*Euphrasia* L.) of the flora of the Perm region]. Chemistry of plant raw materials. 2011;4:177-80. Russian.
13. Bandyukova VA, Shinkarenko AL, Kazakov AL. Metody issledovaniya prirodnyh flavonoidov [Methods for studying natural flavonoids]. Pyatigorsk: Izd-vo Bal'neol. in-t; 1977. 72 p. Russian.
14. Korul'kin DYu, Abilov ZhA, Muzychkina RA, Tolstikov GA. Prirodnye flavonoidy [Natural flavonoids]. Novosibirsk: Geo;2007. 232 p. Russian.
15. Golovkin BN, Rudenskaya RN, Trofimova IA, Shreter AI. Biologicheskii aktivnye veschestva rastitel'nogo proiskhozhdeniya [Biologically active substances of vegetable origin]. Mockva: Nauka;2002. Vol. 3. 216 p. Russian.
16. Chervonnaya NM, Oganessian ET, Andreeva OA, Senchenko SP, Borovskij BV. Sposob polucheniya standarta patuletna iz socvetij barhatcev rasprostertyh (*Tagetes patula* L.) [Method for obtaining the standard patula from inflorescences of marigolds spread (*Tagetes patula* L.)]. Health and Education in the XXI Century. 2017;19(6):132-7. Russian.
17. Kolbin AM, Solominova TS, Tyurina LA, Krylova SF. Raschet i verifikaciya koefficientov raspredeleniya oktanol/voda gerbicidov [Calculation and verification of herbicide distribution coefficient between n-octanol and water]. Bashkir chemical journal. 2007;14(3):170-3. Russian.
18. Ku CS, Kim B, Pham TX, Yang Y, Weller CL, Carr TP, Park YK, Lee JY. Hypolipidemic Effect of a Blue-Green Alga (*Nostoc commune*) Is Attributed to Its Nonlipid Fraction by Decreasing Intestinal Cholesterol Absorption in C57BL/6J Mice. *Journal of Medicinal Food*. 2015 Nov;18(11):1214-22. DOI: 10.1089/jmf.2014.0121
19. Jiang T, Gao X, Wu C, Tian F, Lei Q, Bi J, Xie B, Wang HY, Chen S, Wang X. Apple-Derived Pectin Modulates Gut Microbiota, Improves Gut Barrier Function, and Attenuates Metabolic Endotoxemia in Rats with Diet-Induced Obesity Mice. *Nutrients*. 2016 Feb 29;8(3):126. DOI: 10.3390/nu8030126
20. Jesch ED, Carr TP. Food Ingredients That Inhibit Cholesterol Absorption. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2017 Jun;22(2):67-80. DOI: 10.3746/pnf.2017.22.2.67
21. Jakobsdottir G, Xu J, Molin G, Ahrne S, Numan M. High-Fat Diet Reduces the Formation of Butyrate, but Increases Succinate, Inflammation, Liver Fat and Cholesterol in Rats, while Dietary Fibre Counteracts These Effects. *PLoS ONE*. 2013 Nov 13;8(11):e80476. DOI: 10.1371/journal.pone.0080476

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

**Аджиахметова Симиλλα Леонтьевна** – преподаватель кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: химия природных соединений. E-mail: similla503@mail.ru

**Поздняков Дмитрий Игоревич** – преподаватель кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: поиск веществ, обладающих эндотелиопротективной активностью. E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

**Червонная Надежда Михайловна** – аспирант кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: химия природных соединений. E-mail: nadezhda.chervonnaya@yandex.ru

**Мыкоц Лилия Петровна** – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры неорганической, физической и коллоидной химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: физико-химические свойства природных соединений. E-mail: 58041@mail.ru

**Воронков Андрей Владиславович** – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: поиск веществ, обладающих эндотелиопротективной активностью; разработка путей фармакологической коррекции состояний, возникающих у лиц, испытывающих постоянное экстремальное физическое и психоэмоциональное напряжение, в том числе в спорте высоких достижений. E-mail: a.v.voronkov@rmedpharm.ru

**Оганесян Эдуард Тоникович** – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: химия природных соединений и их синтетических аналогов; исследование промышленных отходов пищевого и фармацевтического производства как дополнительного источника получения лечебно-профилактических средств, медицинская химия. E-mail: edwardov@mail.ru

**Adjiahmetova Similla Leontevna** – Teacher of the Department of Organic Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of Volgograd Medical State University. Research interests: chemistry of natural compounds. E-mail: similla503@mail.ru

**Pozdnyakov Dmitry Igorevich** – Teacher of the Department of Pharmacology with the course of Clinical Pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of Volgograd Medical State University. Research interests: search for substances of endothelioprotective activity. E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

**Chervonnaya Nadezhda Mikhailovna** – postgraduate student of the Department of Organic Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of Volgograd Medical State University. Research interests: chemistry of natural compounds. E-mail: nadezhda.chervonnaya@yandex.ru

**Myikots Liliya Petrovna** – PhD (Pharmacy), Associate Professor of the Department of Inorganic, Physical and Colloid Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of Volgograd Medical State University. Research interests: physical and chemical properties of natural compounds. E-mail: 58041@mail.ru

**Voronkov Andrey Vladislavovich** – PhD (Medicine), docent, head of the Department of pharmacology with a course of clinical pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of Volgograd Medical State University. Research interests: search for substances with endothelioprotective activity; development of ways of pharmacological correction of conditions arising in individuals experiencing constant extreme physical and psychoemotional stress, including sports of high achievements; legal aspects of sports medicine; innovative approaches in the sphere of postgraduate education specialists. E-mail: prohor.77@mail.ru

**Oganesyanyan Eduard Tonikovich** – PhD (Pharmacy), Professor, Head of the Department of Organic Chemistry Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University. Research interests: chemistry of natural compounds and their synthetic analogues; research of industrial wastes of food and pharmaceutical production as an additional source of medicinal and prophylactic drugs, medical chemistry. E-mail: edwardov@mail.ru

Поступила в редакцию: 25.12.2017  
Отправлена на доработку: 16.01.2018  
Принята к печати: 29.03.2018

Received: 25.12.2017  
Sent back for revision: 16.01.2018  
Accepted for publication: 29.03.2018